

证 明 4

本证明之附件是向本局提交的下列专利申请副本

申 请 日: 99 03 09

申 请 号: 99 1 02848. 1

申 请 类 别: 发 明

发明创造名称: 一种含环孢素的药物组合物

发明人或设计人: 张泳华

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

申 请 人: 杭州中美华东制药有限公司

中华 人 民 共 和 国

国家知识产权局局长

姜 翎

00 年 03 月 05 日

权 利 要 求 书

1. 一种含环孢素的药物组合物，其包括下列主要成分：

- (1) 作为活性组分的环孢素；
- (2) 作为溶剂或表面活性剂助剂的乙醇或丙二醇或其混合物；
- (3) 作为增溶剂的 HLB 值为 10 到 19 的亲水性表面活性剂；
- (4) 作为亲油性组分的中长链饱和或不饱和脂肪酸、取代羧酸等可药用有机酸或其中一个或多个酸的混合物或鱼油；
- (5) 根据各剂型的不同要求，可不加入水或加入适当的水以制 10 成亲水基质，

该组合物可以制备成软胶囊剂、软膏剂、滴眼剂、口服液及注射剂等剂型。

2. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中作为溶剂或表面活性剂助剂的是乙醇、丙二醇或两者的混合物。

3. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中作为混合助溶剂的乙醇与丙二醇的比例为 1：0.1~10（重量比）。

4. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中作为混合助溶剂的乙醇与丙二醇的比例为 1：0.5~5（重量比）。

5. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中 HLB 值为 10~19 的表面活性剂是聚氧乙烯蓖麻油衍生物或吐温类或麦泽类。

20 6. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中作为油性组分的中长链饱和脂肪酸为 C_{8-28} 羧酸。

7. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中作为油性组分中长链不饱和脂肪酸为 C_{10-24} 的一、二、三烯酸。

25 8. 根据权利要求 7 的药物组合物，其中作为油性组分不饱和脂肪酸为 C_{14-22} 的一、二、三烯酸。

9. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中作为油性组分的取代羧酸为乳酸。

30 10. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中作为油性组分的鱼油为 DHA 含量为 70%（重量）的鱼油。

11. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中作为油性组分的中长链饱和或不饱和脂肪酸、取代羧酸等可药用有机酸或其中一个或多个酸

的混合物。

12. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中活性组分与水的比例为 1 : 0~1000 (重量比)。
13. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中该组合物可以制备成明胶包封软胶囊、软膏剂、滴眼剂、口服液及注射剂等剂型。
5

说 明 书

一种含环孢素的药物组合物

5 本发明涉及一种含环孢素的药物组合物，其活性组分为环孢素；
乙醇或丙二醇或其混合物作为溶剂或表面活性剂助剂；以 HLB 值（亲
水—亲脂平衡值）为 10 到 19 的亲水性表面活性剂为增溶剂；其特点
是选择中长链饱和或不饱和脂肪酸、取代羧酸等可药用有机酸或其中
一个或多个酸的混合物或鱼油作为亲油性组分；根据各剂型的不同要
求，可不加入水或加入适当的水制成亲水基质，该组合物的配方可适
10 用于软胶囊剂、软膏剂、滴眼剂、口服液及注射剂等剂型的制备。

更具体地说，本发明涉及环孢素难溶性药物的组合物，该组合物
的配方可适用于软胶囊剂、软膏剂、滴眼剂、口服液及注射剂等剂型
的制备。现对本发明药物组合物中的各种组分分别加以说明。

15 1. 活性成分

活性成分是环孢素，环孢素又称环孢菌素 A（即 Cyclosporin A 或 Cyclosporine，简称 CsA），是一种由 11 个氨基酸残基组成的环状多肽化合物，临床主要用于器官移植、骨髓移植后的抗排异治疗和自身免疫性疾病的治疗。它作用于淋巴细胞增殖早期，对细胞的抑制作用是可逆的，并且不影响骨髓的造血功能，不会引起骨髓抑制、白细胞和血小板减少，是一种新型、高效的免疫抑制剂。环孢素系白色结晶状粉末，其分子量为 1202.64，是高亲脂疏水的物质，在水中几乎不溶，而在甲醇、乙醇、丙酮、乙醚、氯仿等有机溶媒中易溶。限于上述原因，环孢素口服后很少被人体吸收，生物利用度很差。80 年代初，山德士公司的科学家将环孢素用乙醇溶解后，与 HLB 值为 3 的表面活性剂 Labrafil M 1944 CS 及植物油混合制成一种油状制剂。这种制剂加水后变为乳液形式，但乳液很低不稳定，一般都在服用前临时用牛奶或果汁稀释。这种制剂的口服生物利用度在很大程度上受到患者的机体状况影响，个体差异很大，相对生物利用度为 4~60%。这种制剂对保持有效的治疗浓度是较为困难的，加之环孢素的主要毒副作用是肝、肾毒性，用量增大也会使毒副作用增加。由于这种制剂是以乙醇作溶剂的，而在软胶囊加工及贮藏过程中乙醇含量会随时间变化而引
20
25
30

起环孢素的析晶，从而降低了环孢素的生物利用度，所以稳定性较差。

为了提高环孢素的生物利用度，减少个体之间生物利用度的悬殊差异和口服前用果汁或牛奶稀释该环孢素液体组合物给药带来的不方便，许多研究者都试图开发一种使环孢素能以分子状态均匀地分布于5水中，从而使得环孢素在人体内的吸收不受胆汁分泌多少和所用食物含脂量的影响，进而减少环孢素的个体差异并且提高其生物利用度的新的环孢素制剂。以此为目的，“山德士”制药公司开发出微乳化、预浓缩的环孢素液体组合物并制成了口服液和软胶囊剂，韩美药品工业株式会社也研制了一种新处方的环孢素软胶囊，目前这两种胶囊及10“山道士”的新口服液都可以从市场上获得，商品名分别为“新山地明 (sandimmun Neoral) ” 和 “因普兰他 (Implant) ”。

本发明是在对难溶性药物进行增溶研究的基础上，对许多种表面活性剂、表面活性助剂、增溶剂、油性组分的组合进行了长期的研究，从而发现了原有技术中未曾涉及的新的环孢素液体组合物。这种组合物能使环孢素的稳定性更高，并且可以不受加工、贮藏过程中表面活性助剂成份迁移的影响，甚至在有水存在或包装不密闭的情况下，也可保持比现有环孢素制剂的更佳的稳定性。该组合物中的活性成分环孢素的比例可以是 0.5~15 % (重量)，在此比例范围内，组合物水中的乳化情况极佳。新配方组合物环孢素口服制剂的生物利用度比原有环孢素制剂有很大的提高，与市售的新山地明胶囊有一致的生物等效性。20

2. 溶剂或表面活性剂助剂

本发明中，选用对脂溶性药物有较好溶解性的乙醇或丙二醇或乙醇和丙二醇的混合液作为活性成分溶剂或表面活性剂助剂。其中乙醇和丙二醇的比例为 1: 0.1~10 (重量比)，优选混合助溶剂的乙醇与丙二醇的比例为 1: 0.5~5 (重量比)，最佳比例为 1: 1~3 (重量比)。25

3. 以 HLB 值为 10 到 19 的亲水性表面活性剂为增溶剂。

本发明的组合物中，选用 HLB 值为 10 到 19 的药用亲水性表面活性剂为脂溶性药物的增溶剂，以促进组合物中亲水和亲油部分达到平衡，形成稳定的乳化物。这类 HLB 值为 10~19 的表面活性剂是聚氧乙烯蓖麻油衍生物，如 Cremophor EL、Cremophor RH40、Cremophor 60 或吐温类，如 Tween 80、Tween 65、Tween 20 或麦泽类，如 Myrij 52。30

特别优选的是聚氧乙烯蓖麻油衍生物。

4. 选择中长链饱和或不饱和脂肪酸、取代羧酸等可药用有机酸或其中一个或多个酸的混合物或鱼油作为亲油性组分。

本发明组合物中，最有特色的是选用中长链的饱和或不饱和脂肪酸、取代羧酸等药用有机酸或其中一个或多个酸的混合物或鱼油作为亲油性组分。这种油性成分的应用，使得本组合物比原有发明的其它组合物更稳定，并且更简捷。在本发明中，中长链的饱和或不饱和脂肪酸、取代羧酸等药用有机酸或其中一个或多个酸的混合物或鱼油中的羧酸可以与组合物中的醇类以酯基状态存在，也可以游离状态存在。其中作为油性组分的中长链的饱和脂肪酸为 C_{8-28} 羧酸，为油性组分的中长链的不饱和脂肪酸为 C_{10-24} 的一、二、三烯酸、取代羧酸乳酸、DHA 含量 70% 的鱼油等。优选作为油性组分的饱和及不饱和脂肪酸为 C_{14-22} 的一、二、三烯酸或其混合物。

5. 根据各剂型的不同要求，可不加入水或加入适当的水制成亲水基质。

本发明的另一个独特之处在于，根据组合物的不同用处不可加水，也可加入一定比例的水，其中活性组分与水的比例为 1 : 0~1000 (重量比)。如在环孢素口服液中加入一定比例的水，可降低组合物凝固或形成絮状物的温度，使其在相对较低的温度下仍可保持不混浊。这一特点也可用于亲水性软膏和滴眼剂的制备。

6. 根据临床上的不同需求，本发明的含环孢菌素或其它脂溶性药物的药物组合物可以制备成明胶包封成软胶囊、也可制成软膏剂、滴眼剂、口服液及注射剂等剂型。

在把本发明的组合物制成各种剂型时，根据需要，可加入具体剂型所需要的辅料或附加剂，如抗氧剂、调味剂、促透剂、pH 调节剂、防腐剂等等，不受所列内容的限制。不同剂型的制备方法，可根据该剂型的常规要求进行。

下面的实施例将对本发明作一更详细的说明。但是，应当理解的是，这些实施例不是用来限定本发明的。

30 实施例 1. 环孢素口服液的制备

| 组分 | 用量 (克) |
|-----|--------|
| 环孢素 | 100 |

| | | |
|---|-----------|---------|
| 5 | 乙醇和丙二醇混合液 | 230 |
| | 聚氧乙烯蓖麻油 | 400 |
| | 油酸 | 220 |
| | 维生素 E | 2 |
| | 蒸馏水 | 余量 |
| | 制成 | 1000 毫升 |

实施例 2. 环孢素胶囊的制备

| | | |
|-----|-----------|----------|
| 10' | 组分 | 用量 (克) |
| | 环孢素 | 50 |
| | 乙醇和丙二醇混合液 | 100 |
| | 聚氧乙烯蓖麻油 | 200 |
| | 精制鱼油 | 130 |
| | 制成 | 1000 粒胶囊 |

15

实施例 3. 环孢素滴眼液的制备

| | | |
|----|-----------|---------|
| 20 | 组分 | 用量 (克) |
| | 环孢素 | 20 |
| | 乙醇和丙二醇混合液 | 50 |
| | 聚氧乙烯蓖麻油 | 90 |
| | 硬脂酸 | 60 |
| | 维生素 E | 1 |
| | 生理盐水 | 余量 |
| | 制成 | 1000 毫升 |

25

上述实施例 1 制备的口服液 (即下文中的新环孢素口服液——简称新赛斯平) 与原处方环孢素胶囊 (简称赛斯平胶囊) 以新山地明胶囊为对照, 进行了人体相对生物利用度研究, 结果如下:

30 对 12 名男性健康自愿受试者口服杭州中美华东制药有限公司研制、提供的环孢素胶囊——赛斯平胶囊 (简称赛斯平胶囊, 市场上有销售) 和新环孢素口服液——新赛斯平 (简称新赛斯平) 与市售进口的微乳化环孢素胶囊——新山地明胶囊 (简称新山地明胶囊) 的药代动力学

参数进行比较。全血浓度用 HPLC 法检测，使用 3P87 和 NDST 程序，按统计矩进行药代动力学分析和配对 t 检验。结果表明：口服赛斯平胶囊、新赛斯平和新山地明胶囊后 AUC (血药浓度—时间曲线下面积，测定生物利用度的主要参数) 分别为 11.43 ± 2.48 、 16.77 ± 2.49 与 5 $16.39 \pm 3.54 \text{ mg}/1 \cdot \text{h}$ ； C_{max} (血药浓度达到峰值时的浓度) 1.56 ± 0.25 、 2.38 ± 0.38 与 $2.47 \pm 0.42 \text{ mg}/1$ ； T_{max} (血药浓度达到峰值时的时间) 2.04 ± 0.54 、 2.00 ± 0.56 与 $1.62 \pm 0.38 \text{ h}$ 。三者的主要药动学参数中的 10 AUC 、 C_{max} 、 T_{max} 在赛斯平胶囊与新赛斯平、新山地明胶囊均有显著性差异；而新赛斯平与新山地明胶囊则无显著性差异。赛斯平胶囊、新赛斯平与市售的新山地明胶囊的相对生物利用度分别为 $73.4 \pm 25.2\%$ 和 105.0 ± 17.9%，结果表明新赛斯平与新山地明胶囊在人体内具有生物等效性。

实验选择 12 名成年男性健康自愿受试者。经临床实验室检查血、尿常规，肝、肾功能，心电图及有关免疫学指标均正常，在充分了解 15 该药的药理、药效和不良反应后，签署自愿者知情同意书。受试前两周内和受试期间均未服用过任何药物。受试期间也不能用任何药物并禁烟、酒、茶，不参加大运动量活动。

环孢素对照品，由杭州中美华东制药有限公司提供(批号为 9201C，浙江省药品检验，纯度 $0.976 \text{ mg} / \text{mg}$)

20 内标，环孢菌素 D(简称 CsD，是环孢菌素中的另一种组分，作为内标)，纯度 98.4%，四川抗菌素工业研究所提供，并配成 $1.2 \text{ mg}/1$ 的溶液备用

实验中所用乙腈为国产色谱纯一级，浙江黄岩化学实验厂生产。其余试剂和有机溶剂均为国产分析纯级，其中用于配制净化流动相的 25 甲醇需经重蒸馏，所用水为超纯水。

高效液相色谱仪为岛津 LC-6A 型，包括 SPD-6AV 可见紫外检测器； CT0-6A 柱温箱； SCL-6A 系统控制器； FCN-2AH 高压切换阀； CR-4A 数据处理机。国产 LD4-2 离心机和 TGL-16 高速离心机。P-133 微机。

受试前夕晚饭后禁食至给药后 4 小时。12 人随机分为 3 组，每组 30 4 人。其中第 1 组 4 人口服赛斯平胶囊 500 mg (20 粒)，第二组 4 人口服新赛斯平 500 mg (5 ml)，第三组 4 人口服新山地明胶囊 500 mg (20 粒)，3 组均用 300 ml 果珍液吞(冲)服。给药 4 小时后按统一标准食

低脂肪餐。受试者接受 3 交叉给药(赛斯平胶囊、新赛斯平、新山地明胶囊)各一次,每次试验间隔为 7 天。实验过程有抢救措施及医生监护。

口服给药后于 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、5.0、8.0、12 及 24 小时采集静脉血。血标本收集于肝素抗凝试管内,强力振摇后后保存于-40℃备测。

采用柱切换全血样本直接进样法测定。取全血样本 1ml 于 5ml 带塞塑料离心管中,精密加入 CsD 工作液 1.0ml、甲醇 1.0ml 和正己烷 1.0ml,旋涡混匀 1min,离心 10min(16000r/min),弃去正己烷层,取下层清液于 1.5ml 离心管中,离心 10min(16000r/min),取 1.0ml 进样分析。净化柱采用型号为 RP2 柱($3.0 \times 4.6\text{mm}$, $25 \sim 40\mu\text{m}$),匀浆法自填。净化流动相为甲醇:水(65:35),流速 $1\text{ml}/\text{min}$ 。净化时间为 10min,正切时间为 1min;分离采用 Shim-pack CLC-ODS 柱($150 \times 6\text{mm}$, $5\mu\text{m}$),并加预柱(型号 ODS, $10 \times 4.6\text{mm}$ $10\mu\text{m}$),柱温 70℃,分析流动相为乙腈:0.025mol/l 磷酸铵(82:18, pH2.5),流速为 $1\text{ml}/\text{min}$,检测波长为 210nm,仪器灵敏度为 0.02AUFS。本法测出 CsA 和 CsD 的保留时间是 9.2min 和 11.2min。按内标法峰高比定量,在 0.025~3mg/l 范围内呈线性关系, $y=1.04*10^{-3}x-4.06*10^{-3}$, $R=0.9999$,以信噪比为 3 计,最低全血检测浓度为 0.01mg/l。在此范围内,分别取高、中和低浓度的 CsA 标准液 1ml,加入 1ml 空白全血, CsD 工作液 1ml 和三己烷 1ml,旋涡混匀 1 min,按上法进行处理后测定,得 CsA 的峰高(H);再取相同浓度的 CsA 标准液 1ml,加入 1ml 水, CsD 工作液 1ml,旋涡混匀 1 min 后直接进样测定,得 CsA 的峰高(H_0),以 H/H_0 为净化回收率,其平均净化回收率是 98.5%(表 1),平均方法回收率是 99.3%(表 2)。同样测得日内 RSD 为 2.3%,日间 RSD 为 2.6%(表 3)。

其平均血药浓度——时间曲线见图 1。其中横坐标表示服药后时间(小时),纵坐标表示血药浓度(mg/l)。图中三角形各点代表服用新山地明软胶囊后的平均血药浓度——时间曲线,正方形各点代表服用赛斯平软胶囊后的平均血药浓度——时间曲线,菱形各点代表服用新赛斯平口服液后的平均血药浓度——时间曲线。

药代动力学参数及生物利用度 F 值

(1) 采用中国药理学会制订的实用药代动力学计算程序 3P87 和新药统计程序 NDST, 在 P-133 微机上进行处理。根据血药浓度的变化, 分别进行一、二室模型曲线拟合, 结果表明: 口服环孢素的药代动力学符合一室模型。实际计算按统计矩计算 AUC、MRT 等参数, C_{max} 和 T_{max} 根据实际血药浓度时间数据读出, $T_{1/2}$ 按一室模型计算; 统计学处理采用配对 t 检验。

其中赛斯平胶囊、新赛斯平与进口新山地明的 AUC 分别为 11.43 ± 2.48 、 16.77 ± 2.49 与 $16.39 \pm 3.54 \text{ mg/l} \cdot \text{h}$; C_{max} 1.56 ± 0.25 、 2.38 ± 0.38 与 $2.47 \pm 0.42 \text{ mg/l}$; T_{max} 2.04 ± 0.54 、 2.00 ± 0.56 与 $1.62 \pm 0.38 \text{ h}$ 。

(2) 生物利用度 (F 值) 的计算:

$$F = \frac{\text{赛斯平胶囊或新赛斯平 AUC}}{\text{新山地明胶囊 AUC}} \times 100\%$$

赛斯平胶囊、新赛斯平与新山地明胶囊的相对生物利用度 (F 值) 分别为 $73.4 \pm 25.2\%$ 和 $105.0 \pm 17.9\%$, 按均数计算分别为 69.7% 和 102.3%。

表 1 用 HPLC 柱切换法测定全血中 CsA 含量净化回收率表 (N=5)

| CSA 浓度 (MF/L) | H | H0 | 净化回收 率 (%) | RSD (%) | 平均值 |
|------------------|-------|-------|---------------|---------|-------|
| 0.101 | 729 | 740 | 98.51 | 2.01 | |
| 0.504 | 3566 | 3641 | 97.95 | 1.83 | 98.51 |
| 2.018 | 14456 | 14593 | 99.06 | 1.05 | |

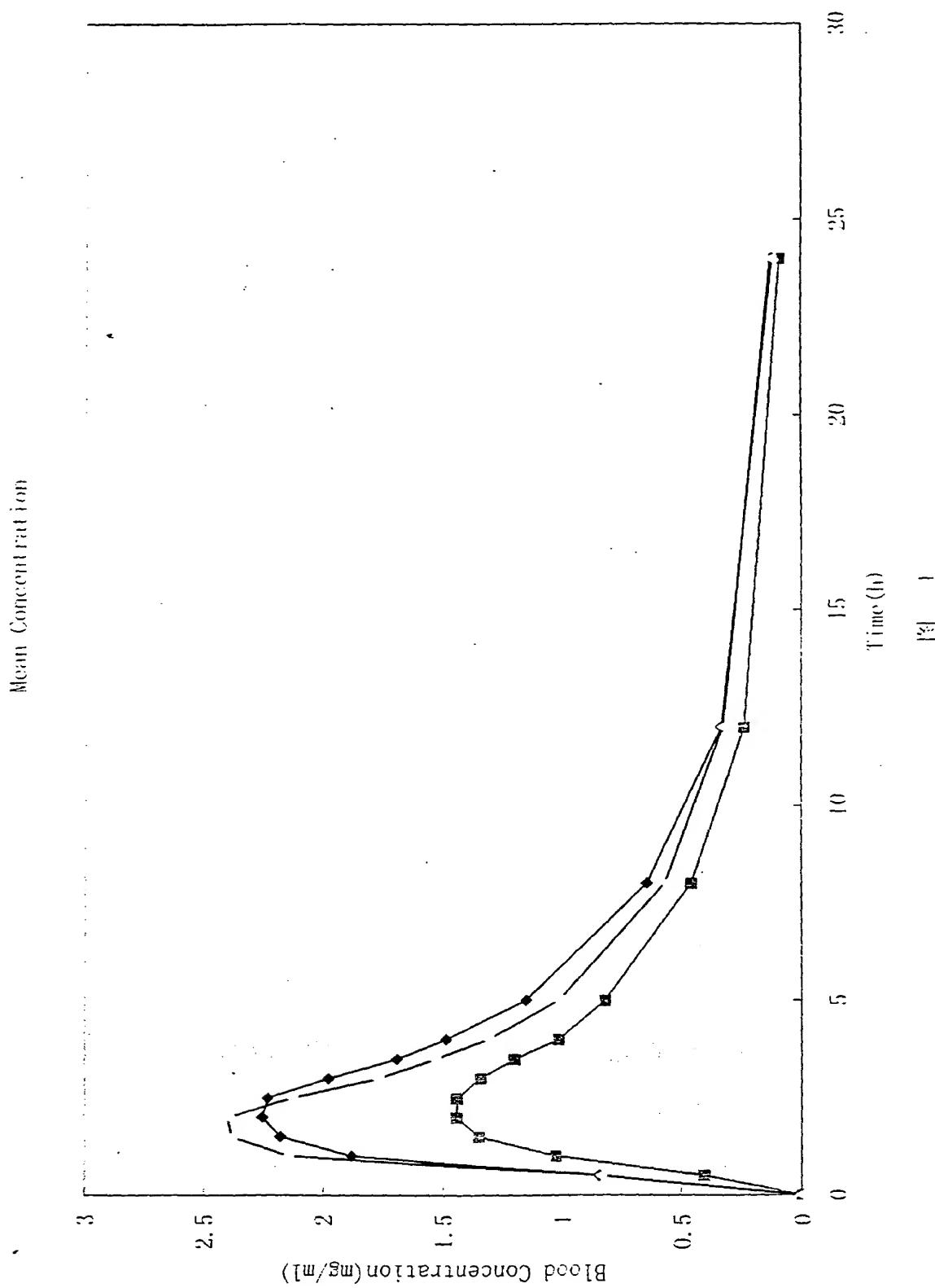
表 2 用 HPLC 柱切换法测定全血中 CsA 含量方法回收率表 (N=5)

| 加入量 (MF/L) | 测得量 (MG/L) | 回收率 (%) | 平均值 | SD (%) |
|---------------|---------------|------------|-------|-----------|
| 0.101 | 0.101 | 99.81 | | |
| 0.504 | 0.496 | 98.41 | 99.31 | 0.64 |
| 2.018 | 2.012 | 99.70 | | |

表 3 用 HPLC 柱切换法测定全血中 CsA 含量精密度表

| 浓度(MF/L) | 日内 RSD | N(次) | 日间 RSD | N(次) |
|----------|--------|------|--------|------|
| 0.102 | 1.76 | 5 | 1.88 | 3 |
| 0.505 | 1.48 | 5 | 2.34 | 3 |
| 2.070 | 2.27 | 5 | 2.57 | 3 |

说 明 书 附 图



含环孢素的药物组合物

发明领域

本发明涉及含环孢素的药物组合物，其活性组分为环孢素；乙醇或丙二醇或其混合物作为溶剂或表面活性剂助剂；以 HLB (亲水—亲脂平衡) 值 10 到 19 的亲水性表面活性剂为增溶剂；其特点是选择中长链的饱和或不饱和脂肪酸、取代羧酸等可药用有机酸或其中一个或多个酸的混合物或鱼油作为亲油性组分；根据各剂型的不同要求，可不加入水或加入适当的水制成亲水基质。该组合物可适用于软胶囊剂、软膏剂、滴眼剂、口服液及注射剂等剂型的制备。

更具体地说，本发明涉及环孢素等难溶性药物的组合物，该组合物的配方可适用于软胶囊剂、软膏剂、滴眼剂、口服液及注射剂等剂型的制备。

背景技术

环孢素又称环孢菌素 A (即 Cyclosporin A 或 cyclosporine, 简称 CsA)，是一种由 11 个氨基酸残基组成的环状多肽化合物，临床主要用于器官移植、骨髓移植后的抗排异治疗和自身免疫性疾病的治疗。它作用于淋巴细胞增殖早期，对细胞的抑制作用是可逆的，并且不影响骨髓的造血功能，不会引起骨髓抑制、白细胞和血小板减少，是一种新型、高效的免疫抑制剂。环孢素系白色结晶状粉末，其分子量为 1202.64，是高亲脂疏水的物质，在水中几乎不溶，而在甲醇、乙醇、丙酮、乙醚、氯仿等有机溶媒中易溶。限于上述原因，环孢素口服后很少被人体吸收，生物利用度很差。80 年代初，山德士公司的科学家将环

孢素用乙醇溶解后, 与 HLB 值为 3 的表面活性剂 Labrafil M 1944 CS 及植物油混合制成一种油状制剂。这种制剂加水后变为乳液形式, 但乳液很低不稳定, 一般都在服用前临时用牛奶或果汁稀释。这种制剂的口服生物利用度在很大程度上受到患者的机体状况影响, 个体差异很大, 相对生物利用度为 4~60%。这种制剂对保持有效的治疗浓度是较为困难的, 加之环孢素的主要毒副作用是肝、肾毒性, 用量增大也会使毒副作用增加。由于这种制剂是以乙醇作溶剂的, 而在软胶囊加工及贮藏过程中乙醇含量会随时间变化而引起环孢素的析晶, 从而降低了环孢素的生物利用度, 所以稳定性较差。

为了提高环孢素的生物利用度, 减少个体之间生物利用度的悬殊差异和口服前用果汁或牛奶稀释该环孢素液体组合物给药带来的不方便, 许多研究者都试图开发一种使环孢素能以分子状态均匀地分布于水中, 从而使得环孢素在人体内的吸收不受胆汁分泌多少和所用食物含脂量的影响, 进而减少环孢素的个体差异并且提高其生物利用度的新的环孢素制剂。以此为目的, “山德士”制药公司已开发出新的环孢素液体组合物并制成了新的口服液和软胶囊剂, 韩美药品工业株式会社也研制了一种新处方的环孢素软胶囊, 目前这两种胶囊及“山道士”的新口服液都可以从市场上获得, 商品名分别为“新山地明 (sandimmun Neoral)”和“因普兰他 (Implanta)”。

发明目的

本发明的目的在于寻找并开发能使环孢素稳定性更高的环孢素液体组合物。

本发明是在对难溶性药物进行增溶研究的基础上, 对许多种

表面活性、表面活性助剂、增溶剂、油性组分的组合进行了长期的研究，从而发现了原有技术中未曾涉及的新的环孢素液体组合物。这种组合物能使环孢素的稳定性更高，并且可以不受加工、贮藏过程中表面活性助剂成份迁移的影响，甚至在有水存在或包装不密闭的情况下，也可保持比现有环孢素制剂的更佳的稳定性。该组合物中的活性成分环孢素的比例可以在 0.5~15% (重量比)，在此比例范围内，组合物水中的乳化情况极佳。新配方组合的环孢素口服制剂的生物利用度比原有环孢素制剂有很大的提高，与市售的新山地明较囊有一致的生物等效性。

发明简述

本发明涉及含环孢素的药物组合物，其包括：

- (1) 作为活性组分的环孢素；
- (2) 作为溶剂或表面活性剂助剂的乙醇或丙二醇或其混合物；
- (3) 作为增溶剂的 HLB 值为 10 到 19 的亲水性表面活性剂；
- (4) 作为亲油性组分的中长链的饱和或不饱和脂肪酸、取代羧酸等可药用有机酸或其中一个或多个酸的混合物或鱼油；
- (5) 根据各剂型的不同要求，可不加入水或加入适当的水制成亲水基质；

该组合物可以制备成软胶囊剂、软膏剂、滴眼剂、口服液及注射剂等剂型。

发明详述

根据本发明，本发明涉及含环孢素的药物组合物，其包括：

- (1) 作为活性组分的环孢素;
- (2) 作为溶剂或表面活性剂助剂的乙醇或丙二醇或其混合物;
- (3) 作为增溶剂的 HLB 值为 10 到 19 的亲水性表面活性剂;
- (4) 作为亲油性组分的中长链的饱和或不饱和脂肪酸、取代羧酸等可药用有机酸或其中一个或多个酸的混合物或鱼油;
- (5) 根据各剂型的不同要求, 可不加入水或加入适当的水制成亲水基质;

该组合物可以制备成软胶囊剂、软膏剂、滴眼剂、口服液及注射剂等剂型。

根据本发明, 作为活性成分的溶剂或表面活性剂助剂选自对脂溶性药物有较好溶解性的乙醇或丙二醇或乙醇和丙二醇的混合液, 其中乙醇和丙二醇的比例为 1: 0.1 ~ 10 (重量比), 优选混合助溶剂的乙醇与丙二醇的比例为 1: 0.5 ~ 5 (重量比), 最佳比例为 1: 1 ~ 3 (重量比)。

根据本发明, 本发明脂溶性药物的增溶剂选自 HLB 值为 10 到 19 的药用亲水性表面活性剂, 以促进组合物中亲水和亲油部分达到平衡, 形成稳定的乳化物。这类 HLB 值为 10 ~ 19 的表面活性剂是聚氧乙烯蓖麻油衍生物, 如 Cremophor EL、Cremophor RH40、Cremophor 60, 或吐温类, 如 Tween 80、Tween 65、Tween 20, 或麦泽类, 如 Myrj 52。特别优选的是聚氧乙烯蓖麻油衍生物。

根据本发明, 本发明药物组合物的特征在于: 选用中长链

的饱和或不饱和脂肪酸、取代羧酸等药用有机酸或其中一个或多个酸的混合物或鱼油作为亲油性组分。这种油性成分的应用，使得本组合物比原有发明的其它组合物更稳定，并且更简捷。在本发明中，中长链的饱和或不饱和脂肪酸、取代羧酸等药用有机酸或其中一个或多个酸的混合物或鱼油中的羧酸可以与组合物中的醇类以酯基状态存在，也可以游离状态存在。其中作为油性组分的中长链的饱和脂肪酸为含 8 - 28 个碳原子的 C_{8-28} 羧酸，为油性组分的中长链的不饱和脂肪酸为含 1 - 24 个碳原子的 C_{10-24} 的一、二、三烯酸、取代羧酸乳酸、DHA 含量 70% 的鱼油等。优选作为油性组分的脂肪酸为含 14 - 22 个碳原子的 C_{14-22} 的饱和及不饱和（一、二、三烯）酸或其混合物。

根据本发明，本发明药物组合物的另一特征在于：根据组合物的不同用处可不加水，也可加入一定比例的水形成亲水基质，其中活性组分与水的比例为 1: 0 ~ 1000 (重量比)。如在环孢素口服液中加入一定比例的水，可降低组合物凝固或形成絮状物的温度，使其在相对较低的温度下仍可保持不混浊。这一特点也可用于亲水性软膏和滴眼剂的制备。

根据本发明，根据临床上的不同需求，含环孢菌素或其它脂溶性药物的制剂配方，其组合物可适用于明胶包封成软胶囊、也可制成软膏剂、滴眼剂、口服液及注射剂等剂型。

在把本发明的组合物制成各种剂型时，根据需要，可加入具体剂型所需要的辅料或附加剂，如抗氧剂、矫味剂、促透剂、PH 调节剂、防腐剂等等，不受所列内容的限制。不同剂型的制备方法，可根据该剂型的常规要求进行。

下面的实施例将对本发明作一更详细的说明。但是，应当

理解的是，这些实施例不是用来限定本发明的。

实施例 1. 环孢素口服液的制备

| 组分 | 用量 (克) |
|-----------|---------|
| 环孢素 | 100 |
| 乙醇和丙二醇混合液 | 230 |
| 聚氧乙烯蓖麻油 | 400 |
| 油酸 | 220 |
| 维生素 E | 2 |
| 蒸馏水 | 余量 |
| 制成 | 1000 毫升 |

实施例 2. 环孢素胶囊的制备

| 组分 | 用量 (克) |
|-----------|----------|
| 环孢素 | 50 |
| 乙醇和丙二醇混合液 | 100 |
| 聚氧乙烯蓖麻油 | 200 |
| 精制鱼油 | 130 |
| 制成 | 1000 粒胶囊 |

实施例 3. 环孢素滴眼液的制备

| 组分 | 用量 (克) |
|-----------|--------|
| 环孢素 | 20 |
| 乙醇和丙二醇混合液 | 50 |

| | |
|-------------|-----------|
| 聚氧乙烯蓖麻油 | 90 |
| 硬脂酸 | 60 |
| 维生素 E | 1 |
| <u>生理盐水</u> | <u>余量</u> |
| 制成 | 1000 毫升 |

上述实施例 1 制备的口服液（即下文中的新环孢素口服液——简称新赛斯平）与原处方环孢素胶囊（简称赛斯平胶囊）以新山地明胶囊为对照，进行了人体相对生物利用度研究，结果如下：

对 12 名男性健康自愿受试者口服杭州中美华东制药有限公司研制、提供的环孢素胶囊——赛斯平胶囊（简称赛斯平胶囊，市场上有销售）和新环孢素口服液——新赛斯平（简称新赛斯平）与市售进口的微乳化环孢素胶囊——新山地明胶囊（简称新山地明胶囊）的药代动力学参数进行比较。全血浓度用 HPLC 法检测，使用 3P87 和 NDST 程序，按统计矩进行药代动力学分析和配对 t 检验。结果表明：口服赛斯平胶囊、新赛斯平和新山地明胶囊后 AUC（血药浓度—时间曲线下的面积，测定生物利用度的主要参数）分别为 11.43 ± 2.48 、 16.77 ± 2.49 与 $16.39 \pm 3.54 \text{ mg/l} \cdot \text{h}$ ； C_{max} （血药浓度达到峰值时的浓度） 1.56 ± 0.25 、 2.38 ± 0.38 与 $2.47 \pm 0.42 \text{ mg/l}$ ； T_{max} （血药浓度达到峰值时的时间） 2.04 ± 0.54 、 2.00 ± 0.56 与 $1.62 \pm 0.38 \text{ h}$ 。三者的主要药动学参数中的 AUC、 C_{max} 、 T_{max} 在赛斯平胶囊与新赛斯平、新山地明胶囊均有显著性差异；而新赛斯平与新山地明胶囊则无显著性差异。赛斯平胶囊、新赛斯平与市售的新山地明胶囊的相对生

物利用度分别为 $73.4 \pm 25.2\%$ 和 $105.0 \pm 17.9\%$ ，结果表明新赛斯平与新山地明胶囊在人体内具有生物等效性。

实验选择 12 名成年男性健康自愿受试者。经临床实验室检查血、尿常规，肝、肾功能，心电图及有关免疫学指标均正常，在充分了解该药的药理、药效和不良反应后，签署自愿者知情同意书。受试前两周内和受试期间均未服用过任何药物。受试期间也不能用任何药物并禁烟、酒、茶，不参加大运动量活动。

环孢素对照品，由杭州中美华东制药有限公司提供(9201C，浙江省药品检验，纯度 0.976 mg / mg)

内标，环孢素 D(简称 CsD，是环孢菌素中的另一种组分作为内标)，纯度 98.4%，四川抗菌素工业研究所提供，并配成 1.2mg/l 的溶液备用

实验中所用乙腈为国产色谱纯一级，浙江黄岩化学实验厂生产。其余试剂和有机溶剂均为国产分析纯级，其中用于配制净化流动相的甲醇需经重蒸馏，所用水为超纯水。

高效液相色谱仪为岛津 LC-6A 型，包括 SPD-6AV 可见紫外检测器；CTO-6A 柱温箱；SCL-6A 系统控制器；FCN-2AH 高压切换阀；CR-4A 数据处理机。国产 LD4-2 离心机和 TGL-16 高速离心机。P-133 微机。

受试前夕晚饭后禁食至给药后 4 小时。12 人随机分为 3 组，每组 4 人。其中第 1 组 4 人口服赛斯平胶囊 500 mg (20 粒)，第二组 4 人口服新赛斯平 500 mg (5 ml)，第三组 4 人口服新山地明胶囊 500 mg (20 粒)，3 组均用 300 ml 果珍液吞(冲)服。给药 4 小时后按统一标准食低脂肪餐。

受试者接受 3 交叉给药(赛斯平胶囊、新赛斯平、新山地明

胶囊)各一次,每次试验间隔为7天。实验过程有抢救措施及医生监护。

口服给药后于0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、5.0、8.0、12及24小时采集静脉血。血标本收集于肝素抗凝试管内,强力振摇后保存于-40℃备测。

采用柱切换全血样本直接进样法测定。取全血样本1ml于5ml带塞塑料离心管中,精密加入CsD工作液1.0ml、甲醇1.0ml和正己烷1.0ml,旋涡混匀1min,离心10min(16000r/min),弃去正己烷层,取下层清液于1.5ml离心管中,离心10min(16000r/min),取1.0ml进样分析。净化柱采用RP2柱(30×4.6mm, 25~40μm),匀浆法自填。净化流动相为甲醇:水(65:35),流速1ml/min。净化时间为10min,正切时间为1min;分离采用Shim-pack CLC-ODS柱(150×6mm, 5μm),并加预柱(ODS, 10×4.6 mm 10μm),柱温70℃,分析流动相为乙腈:0.025mol/l磷酸铵(82:18, pH2.5),流速为1ml/min,检测波长为210nm,仪器灵敏度为0.02AUFS。本法测出CsA和CsD的保留时间是9.2min和11.2min。按内标法峰高比定量,在0.025~3mg/l范围内呈线性关系, $y=1.04*10^{-3}x-4.06*10^{-3}$, R=0.9999,以信噪比为3计,最低全血检测浓度为0.01mg/l。在此范围内,分别取高、中和低浓度的CsA标准液1ml,加入1ml空白全血, CsD工作液1ml和正己烷1ml,旋涡混匀1min,按上法进行处理后测定,得CsA的峰高(H);再取相同浓度的CsA标准液1ml,加入1ml水, CsD工作液1ml,旋涡混匀1min后直接进样测定,得CsA的峰高(H0),以H/H0为净化回收率,其平均净化回收率是98.5%(表1),平均方法回收率是

99.3% (表 2)。同样测得日内 RSD 为 2.3%，日间 RSD 为 2.6% (表 3)。

其平均血药浓度——时间曲线见图 1。其中横坐标表示服药后时间 (小时)，纵坐标表示血药浓度 (mg/l)。图中三角形各点代表服用新山地明软胶囊后的平均血药浓度——时间曲线，正方形各点代表服用赛斯平软胶囊后的平均血药浓度——时间曲线，菱形各点代表服用新赛斯平口服液后的平均血药浓度——时间曲线。

药代动力学参数及生物利用度 F 值

(1) 采用中国药理学会制订的实用药代动力学计算程序 3P87 和新药统计程序 NDST，在 P-133 微机上进行处理。根据血药浓度的变化，分别进行一、二室模型曲线拟合，结果表明：口服环孢素的药代动力学符合一室模型。实际计算按统计矩计算 AUC、MRT 等参数，C_{ma} 和 T_{max} 根据实际血药浓度时间数据读出，T_{1/2} 按一室模型计算；统计学处理采用配对 t 检验。

其中赛斯平胶囊、新赛斯平与进口新山地明的 AUC 分别为 11.43±2.48、16.77±2.49 与 16.39±3.54mg/l*h；C_{max} 1.56±0.25、2.38±0.38 与 2.47±0.42mg/l；T_{max} 2.04±0.54、2.00±0.56 与 1.62±0.38h。

(2) 生物利用度 (F 值) 的计算：

赛斯平胶囊或新赛斯平 AUC

$$F = \frac{\text{赛斯平胶囊或新赛斯平 AUC}}{\text{新山地明胶囊 AUC}} \times 100\%$$

赛斯平胶囊、新赛斯平与新山地明胶囊的相对生物利用度(F值)分别为 $73.4\pm25.2\%$ 和 $105.0\pm17.9\%$ ，按均数计算分别为69.7%和102.3%。

表1 用HPLC柱切换法测定全血中CsA含量净化回收率表(N=5)

| CSA浓度 (MF/L) | H | H0 | 净化回收 率(%) | RSD(%) | 平均值 |
|-----------------|-------|-------|--------------|--------|-------|
| 0.101 | 729 | 740 | 98.51 | 2.01 | |
| 0.504 | 3566 | 3641 | 97.95 | 1.83 | 98.51 |
| 2.018 | 14456 | 14593 | 99.06 | 1.05 | |

表2 用HPLC柱切换法测定全血中CsA含量方法回收率表(N=5)

| 加入量 (MF/L) | 测得量 (MG/L) | 回收率 (%) | 平均值 | SD (%) |
|---------------|---------------|------------|-------|-----------|
| 0.101 | 0.101 | 99.81 | | |
| 0.504 | 0.496 | 98.41 | 99.31 | 0.64 |
| 2.018 | 2.012 | 99.70 | | |

表 3 用 HPLC 柱切换法测定全血中 CsA 含量精密度表

| 浓度(MF/L) | 日内 RSD | N(次) | 日间 RSD | N(次) |
|----------|--------|------|--------|------|
| 0.102 | 1.76 | 5 | 1.88 | 3 |
| 0.505 | 1.48 | 5 | 2.34 | 3 |
| 2.070 | 2.27 | 5 | 2.57 | 3 |

权利要求

1. 一种含环孢素的药物组合物，其包括下列主要成分：

- (1) 作为活性组分的环孢素；
- (2) 作为溶剂或表面活性剂助剂的乙醇或丙二醇或其混合物；
- (3) 作为增溶剂的 HLB 值为 10 到 19 的亲水性表面活性剂；
- (4) 作为亲油性组分的中长链的饱和或不饱和脂肪酸、取代羧酸等可药用有机酸或其中一个或多个酸的混合物或鱼油；
- (5) 根据各剂型的不同要求，可不加入水或加入适当的水制成亲水基质；

该组合物可以制备成软胶囊剂、软膏剂、滴眼剂、口服液及注射剂等剂型。

2. 根据权利要求 1 的组合物，其中作为溶剂或表面活性剂助剂的是乙醇、丙二醇或两者的混合物。

3. 根据权利要求 1 的组合物，其中作为混合助溶剂的乙醇与丙二醇的比例为 1: 0.1~10 (重量比)。

4. 根据权利要求 1 的组合物，其中作为混合助溶剂的乙醇与丙二醇的比例为 1: 0.5~5 (重量比)。

5. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中 HLB 值为 10~19 的表面活性剂是聚氧乙烯蓖麻油衍生物或吐温类或麦泽类。

6. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中作为油性组分的中长链的饱和脂肪酸为 C_{8~28} 羧酸。

7. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中作为油性组分的中长链的不饱和脂肪酸为 C_{10~24} 的一、二、三烯酸。

8. 根据权利要求 7 的药物组合物，其中作为油性组分的不饱和脂肪酸为 C₁₄₋₂₂ 的一、二、三烯酸。

9. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中作为油性组分的取代羧酸为乳酸。

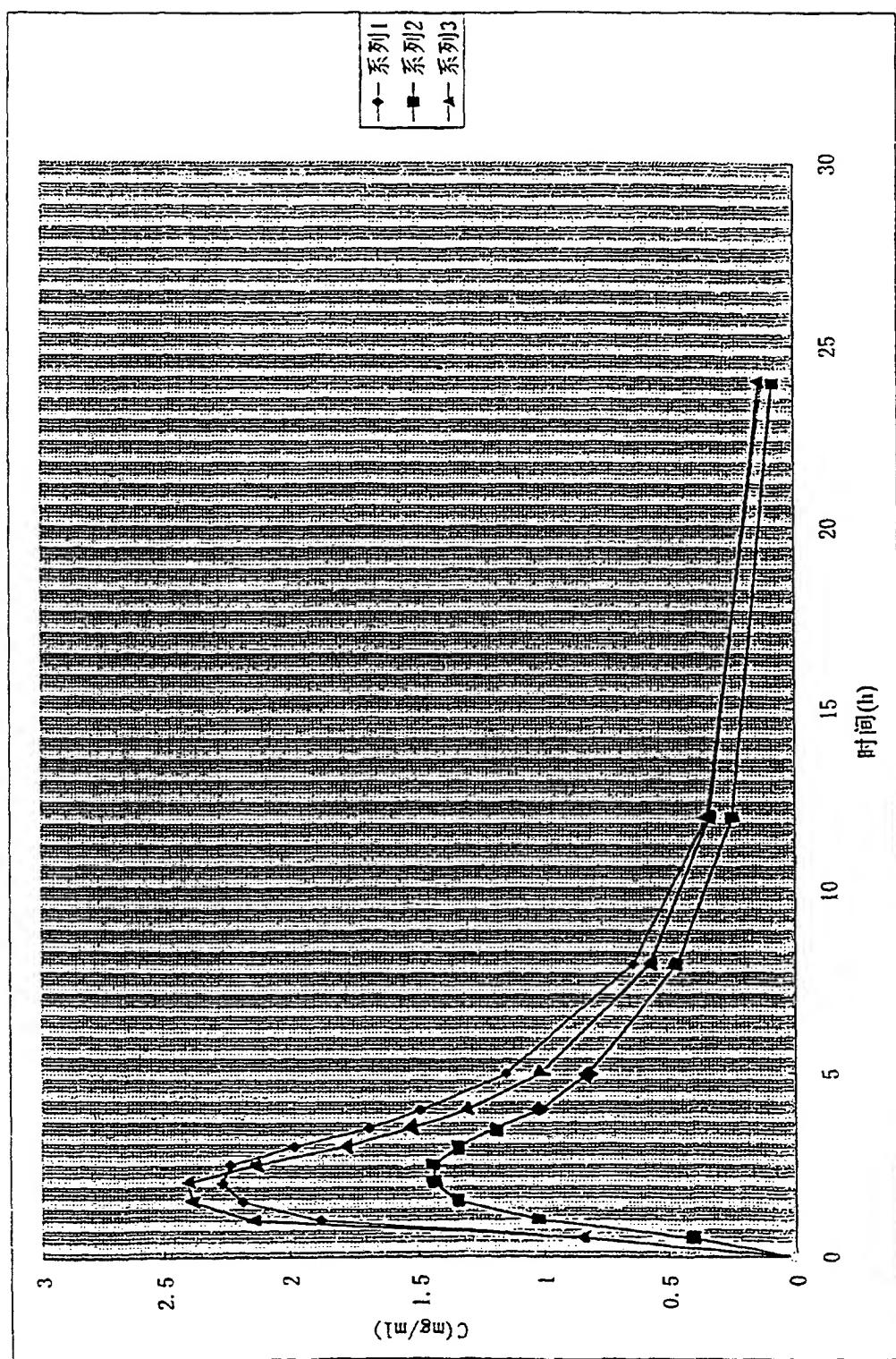
10. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中作为油性组分的鱼油为 DHA 含量为 70% (重量) 的鱼油。

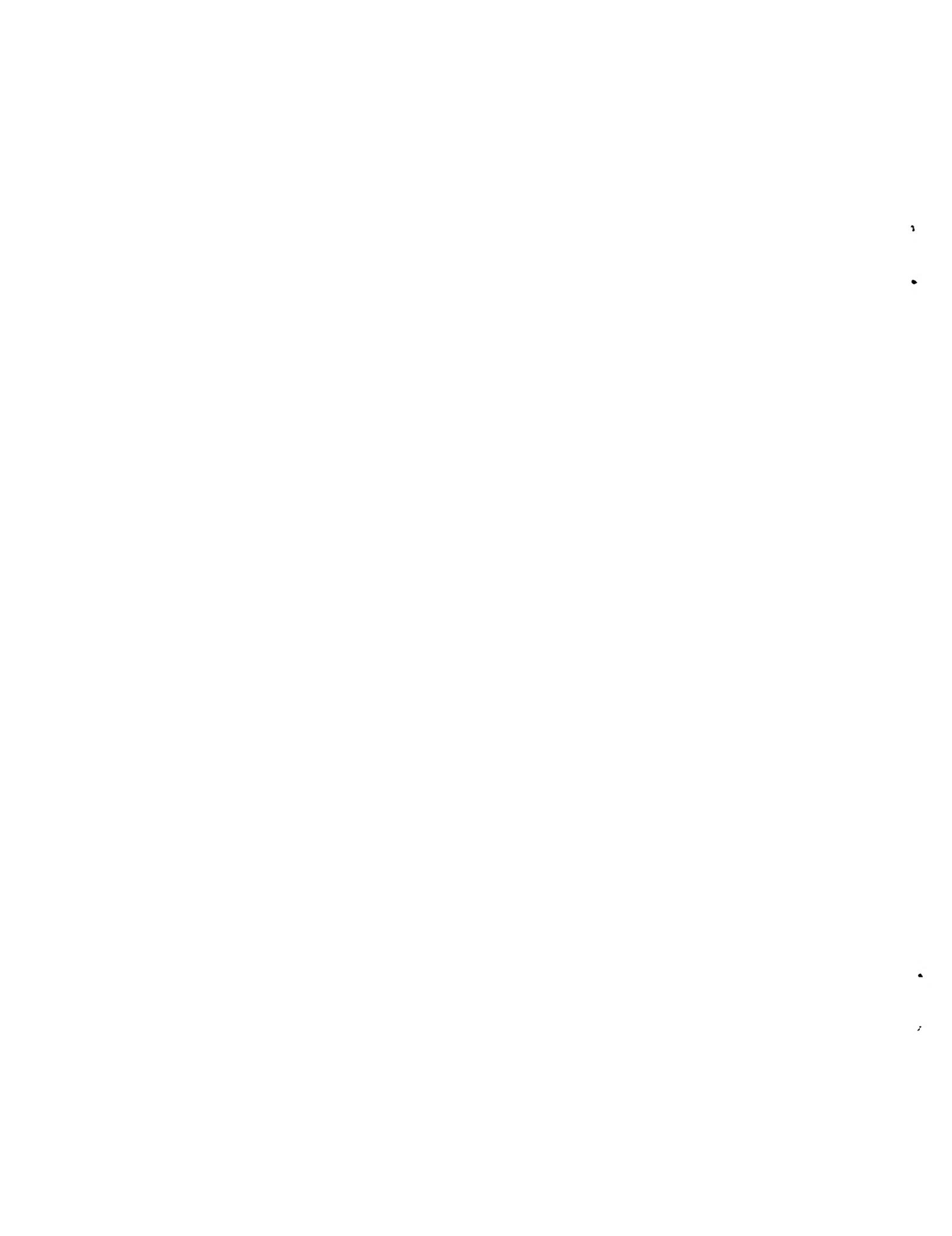
11. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中作为油性组分的中长链的饱和或不饱和脂肪酸、取代羧酸等药用有机酸或其中一个或多个酸的混合物。

12. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中活性组分与水的比例为 1: 0 ~ 1000 (重量比)。

13. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中该组合物可以制备成明胶包封的软胶囊、软膏剂、滴眼剂、口服液及注射剂等剂型。

Fig. 1





INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN00/00041

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC⁶ : A61K38/13,A61K31/045,A61K31/20

According to International Patent Classification(IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched(classification system followed by classification symbols)

IPC⁶ : A61K38/13,A61K31/045,A61K31/20

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the field searched

Electronic data base consulted during the international search(name of data base and, where practicable, search terms used)

CNPAT, PAJ, EPOQUE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant claim No. |
|-----------|--|--------------------|
| A | CN1079907A, 29. DEC. 1993 see the abstract and the claims. | 1-13 |
| A | CN1128671A, 14. AUG. 1996 see the abstract and the claims. | 1-13 |
| A | CN1204261A, 06. JAN. 1999 see the abstract and the claims. | 1-13 |
| A | US5504068, 02. APR. 1996 see the whole document. | 1-13 |
| A | US5589455, 31.DEC.1996. see the whole document. | 1-13 |

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason(as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

| | |
|--|--|
| Date of the actual completion of the international search 17.MAR.2000 (17.03.00) | Date of mailing of the international search report 30 MAR 2000 (30.03.00) |
| Name and mailing address of the ISA/ The Chinese Patent Office 6, Xitucheng Road, Haidian District, Beijing, 100088, China Facsimile No. 86-010-62093733 | Authorized officer ZENG,Fanhui Telephone No. 86-010-62093733 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN00/00041

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family members | Publication date |
|--|------------------|-----------------------|------------------|
| CN1079907A | 29.12.93 | CA2175842 | 28.12.92 |
| | | GB2257359 | 13.01.93 |
| | | AU1852792 | 11.03.93 |
| | | EP0539319 | 28.04.93 |
| | | JP5186365 | 27.07.93 |
| CN1128671A | 14.08.96 | EP0711550 | 15.05.96 |
| | | JP8310964 | 26.11.96 |
| | | US5603951 | 18.02.97 |
| CN1204261A | 06.01.99 | NONE | |
| US5504068 | 02.04.96 | CA2090417 | 28.12.92 |
| | | WO9300106 | 07.01.93 |
| | | AU2000592 | 25.01.93 |
| | | EP0547229 | 23.06.93 |
| | | JP5310591 | 22.11.93 |
| US5589455 | 31.12.96 | NONE | |

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN00/00041

A. 主题的分类

Int.Cl⁶:A61K38/13, A61K31/045, A61K31/20

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类体系和分类号)

Int.Cl⁶:A61K38/13, A61K31/045, A61K31/20

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称和, 如果实际可行的, 使用的检索词)

CNPAT, PAJ, EPOQUE

C. 相关文件

| 类 型* | 引用文件, 必要时, 包括相关段落的说明 | 相关的权利要求编号 |
|------|---|-----------|
| A | CN1079907A, 1993 年 12 月 29 日。 见摘要和权利要求书。 | 1 - 13 |
| A | CN1128671A, 1996 年 8 月 14 日。 见摘要和权利要求书。 | 1 - 13 |
| A | CN1204261A, 1999 年 1 月 6 日。 见摘要和权利要求书。 | 1 - 13 |
| A | US5504068, 1996 年 4 月 2 日。 见全文。 | 1 - 13 |
| A | US5589455, 1996 年 12 月 31 日。 见全文。 | 1 - 13 |



其余文件在 C 栏的续页中列出。



见同族专利附件。

* 引用文件的专用类型:

“A” 明确表示了一般现有技术、不认为是特别相关的文件

“E” 在先文件, 但是在国际申请日的同一日或之后公布的

“L” 对优先权要求可能产生怀疑或者用来确定另一篇引用文件的公布日期或其它特殊理由而引用的文件(如详细说明)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他手段的文件

“P” 在国际申请日之前但迟于所要求的优先权日公布的文件

“T” 在国际申请日或优先权日之后公布的在后文件, 它与申请不相抵触, 但是引用它是为了理解构成发明基础的理论或原理

“X” 特别相关的文件; 当该文件被单独使用时, 要求保护的发明不能认为是新颖的或不能认为具有创造性

“Y” 特别相关的文件; 当该文件与其他一篇或多篇这类文件结合在一起, 这种结合对本领域技术人员是显而易见的, 要求保护的发明不能认为具有创造性

“&” 同族专利成员的文件

| | |
|--|---|
| 国际检索实际完成的日期 17.03 月 2000(17.03.2000) | 国际检索报告邮寄日期 30. 3月 2000(30.03.00) |
| 国际检索单位名称和邮寄地址 中国专利局 中国北京市海淀区西土城路 6 号(100088) 传真号: 86-010-62019451 | 受权官员 曾繁辉 电话号码: 86-01-62093733 |

国际检索报告
同族专利成员的情报

国际申请号
PCT/CN00/00041

| 检索报告中引用的专利文献 | 公布日期 | 同族专利成员 | 公布日期 |
|--------------|----------|---|--|
| CN1079907A | 29.12.93 | CA2175842 GB2257359 AU1852792 EP0539319 JP5186365 | 28.12.92 13.01.93 11.03.93 28.04.93 27.07.93 |
| CN1128671A | 14.08.96 | EP0711550 JP8310964 US5603951 | 15.05.96 26.11.96 18.02.97 |
| CN1204261A | 06.01.99 | 无 | |
| US5504068 | 02.04.96 | CA2090417 WO9300106 AU2000592 EP0547229 JP5310591 | 28.12.92 07.01.93 25.01.93 23.06.93 22.11.93 |
| US5589455 | 31.12.96 | 无 | |